

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
(damaliger Direktor: Professor Dr. A. Windorfer)

ERFAHRUNGEN MIT EINEM
SCREENINGTEST ZUR FRÜHERFASSUNG
DER GALAKTOSÄMIE DURCH
GAL-1-PHOSPHATURIDYLTRANSFERASE
(E.C.2.7.7.12) – DEFECT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Todora Alexandrov
aus Schwabmünchen

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
(damaliger Direktor: Professor Dr. A. Windorfer)

ERFAHRUNGEN MIT EINEM
SCREENINGTEST ZUR FRÜHERFASSUNG
DER GALAKTOSÄMIE DURCH
GAL-1-PHOSPHATURIDYLTRANSFERASE
(E.C.2.7.7.12) – DEFECT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Todora Alexandrov
aus Schwabmünchen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



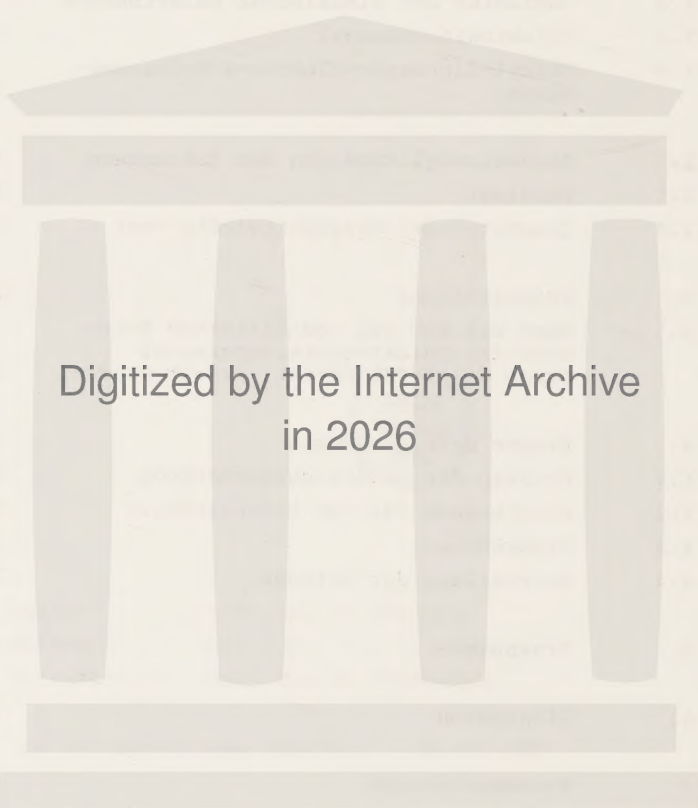
Dekan: Prof. Dr. W. Kersten
Referent: Prof. Dr. F.C. Sitzmann
Korreferent: Prof. Dr. A. Windorfer

Tag der mündlichen Prüfung: 20.07.1981

I N H A L T

Seite

1.	Einleitung	1
1.1	Krankheitsbild der Galaktosämie	3
1.2	Varianten der klassischen Galaktosämie	5
1.3	Galaktokinase-mangel	11
1.4	Uridyl-diphospho-Glukose-4-Epimerase-mangel	13
2.	Nachweismöglichkeiten der Erkrankung	15
2.1	Suchtest	15
2.2	Quantitativer Enzymaktivitäts-Test	18
3.	Fragestellung	20
3.1	Kann mit dem neu modifizierten Suchtest die Galaktosämie, verursacht durch Gal-1-PUT-Defekt, erfaßt werden?	20
4.	Eigene Untersuchungen	21
4.1	Prinzip der Untersuchungsmethode	21
4.2	Arbeitsgang für den Screeningtest	21
4.3	Probandengut	28
4.4	Beurteilung der Befunde	28
5.	Ergebnisse	30
6.	Diskussion	38
7.	Zusammenfassung	45
8.	Literatur	47
	Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546212_0040

1. EINLEITUNG

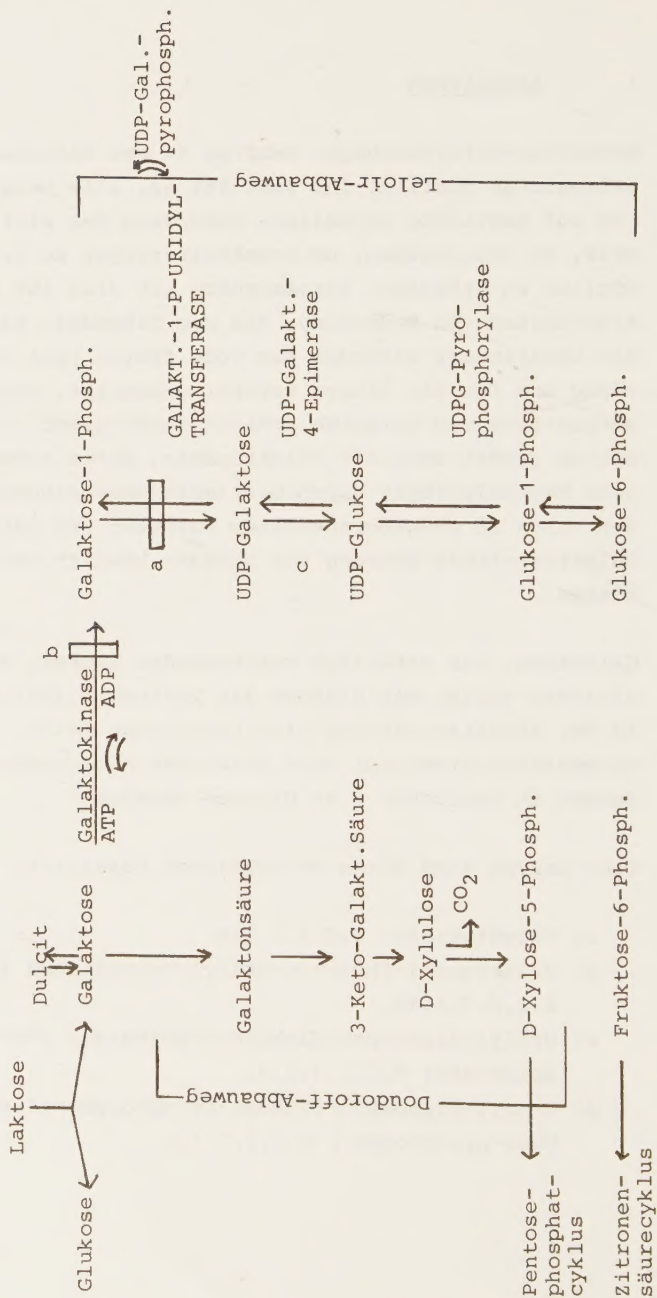
Screening-Untersuchungen gehören zu den Maßnahmen der präventiven Medizin. Ihr Ziel ist es, alle Neugeborenen auf bestimmte Anomalien, besonders des Stoffwechsels, zu untersuchen, um Krankheitsträger so früh wie möglich zu erfassen. Insbesondere ist dies für die Krankheiten von Bedeutung, die man behandeln kann und die unbehandelt entweder zum Tode führen oder schleichend und für die Eltern vorerst unbemerkt, schwere körperliche und geistige Schäden verursachen (17). Hierzu gehört auch die Galaktosämie, deren homozygote Merkmalsträger durch bestimmte Screeningmethoden schon im Neugeborenenalter entdeckt und durch Galaktose-freie Nahrung vor Schäden bewahrt werden können.

Galaktose, ein natürlich vorkommender Zucker, der zu gleichen Teilen mit Glukose die Laktose bildet, spielt in der Säuglingsnahrung eine bedeutende Rolle. Im Intermediärstoffwechsel wird Galaktose entsprechend dem Schema in Abbildung 1 zu Glukose umgebaut.

Vier Enzyme sind daran entscheidend beteiligt:

- a) Galaktokinase E.C.2.7.1.6.
- b) Galaktose-1-Phosphat-Uridyl-Transferase (Gal-1-PUT) E.C.2.7.7.12.
- c) Uridyl-diphospho-Glukose-4-Epimerase (UDP-Gluc-4-Epimerase) E.C.5.1.3.2.
- d) Uridyl-diphospho-Glukose-pyrophosphorylase (UDP-Gluc-pyrophosph.) E.C.2.7.7.9.

Abb. 1: Galaktosestoffwechselschema



Für die Enzyme a) bis c) wurden beim Menschen bereits durch Mutation der betreffenden Gene bedingte Defekte aufgedeckt (39, 45, 47).

Die Galaktosämie, welche auf Mangel oder Aktivitätsverlust des Enzyms Gal-1-PUT zurückzuführen ist, wird auch als "Klassische Galaktosämie" bezeichnet. Das klinische Bild wurde schon 1908 durch v. Reuss (36) in Wien erstmals beschrieben, jedoch erst 5 Jahrzehnte später biochemisch durch den Nachweis des Enzymdefektes objektiviert. Die Frequenz liegt, bedingt durch erhebliche Schwankungen, für den homozygoten Zustand bei 1 : 10.000 oder sogar darunter bis maximal 1 : 72.000 (19, 44).

Biochemisch findet sich in den Erythrocyten - untersucht im Hämolysat - eine stark erhöhte Konzentration von Galaktose-1-Phosphat und infolge Rückstaus in dem davor liegenden Stoffwechselschritt auch eine Erhöhung des Galaktoseblutspiegels. Letzterer bewirkt eine Ausscheidung von Galaktose im Urin sowie von Galaktitol, der Alkoholverbindung der Galaktose.

1.1 Krankheitsbild der Klassischen Galaktosämie

Das klinische Krankheitsbild tritt in drei verschiedenen Verlaufsformen auf, die bislang durch kein entsprechendes biochemisches Korrelat erklärbar sind (46). Unterschiedliche Erscheinungsformen werden nämlich auch innerhalb Geschwisterschaften beobachtet. Die akute Form tritt bereits in der Neugeborenenperiode in Erscheinung. Die Säuglinge fallen durch Trinkunlust, Durchfälle, Erbrechen und starkem Gewichtsverlust auf. Die Gelbsucht ist verstärkt und kann einen Ikterus

gravis vortäuschen. Die Leber nimmt rasch an Größe zu. Im Urin werden Galaktose und Protein ausgeschieden. Gleichzeitig besteht eine Hyperaminoacidurie. Der Blutzucker ist infolge der Galaktosämie erhöht, die eigentliche Glukosekonzentration meistens erniedrigt. Die Schwere der Erkrankung korreliert mit der Menge der zugeführten Laktose. Reichliche Milchnahrung kann einen foudroyanten Verlauf mit Krämpfen, Gerinnungsstörungen und Hautblutungen, ähnlich einer Sepsis, zur Folge haben, bevor noch die Diagnose gestellt ist (24, 39). Bei Milchauslaßversuchen mit Teepausen oder i.v.-Ernährung bilden sich die Symptome zurück, so daß eine allgemeine Besserung eintritt. Bei erneuter Milchzufuhr setzt jedoch die geschilderte Symptomatik wieder schlagartig ein (17). 2/3 der erkrankten Neugeborenen sterben innerhalb der ersten zwei Lebenswochen.

Die protrahierte Verlaufsform ist gekennzeichnet durch Lebercirrhose, Dystrophie, Katarakte und Oligophrenie. Die ersten wenig auffälligen Erscheinungen in der Neugeborenenperiode wie Ikterus prolongatus und mäßige Lebervergrößerung werden gewöhnlich erst retrospektiv erkannt. Im späteren Säuglingsalter erweisen sich die Kinder als fütterschwierig, erbrechen öfters und gedeihen nicht. Diesbezügliche Untersuchung ergibt eine Linsentrübung. Nicht selten wird eine mehr oder weniger ausgeprägte Retardierung beobachtet (24). Je mehr die Milch in der Ernährung zurücktritt, desto langsamer schreitet das Leiden fort. Viele dieser Kinder sterben mit 3 bis 4 Jahren unter dem Bild einer Lebercirrhose.

Bei der sogenannten subklinischen Form (39) liegt objektiv eine verminderte Galaktosetoleranz vor,

die sich bei älteren Kindern und Erwachsenen in einer Abneigung gegen Milch äußert. Die bei Sippenuntersuchungen aufgedeckten heterozygoten Genträger (28) machten häufig diesbezügliche Angaben. Die Diagnose wird meist zufällig gestellt. Die Nachweismethoden für die klassische Galaktosämie beziehen sich auf den Aktivitätsverlust der GAL-1-PUT im Erythrozyten oder der Galaktosämie bzw. -urie, als auch der Anhäufung von GAL-1-Phosphat in den Erythrozyten, aber auch in anderen Zellen (wie z.B. Leber).

1.2 Varianten der klassischen Galaktosämie

Neben der klassischen Form der Galaktosämie, bei der eine Aktivität der GAL-1-PUT in allen Organen fehlt (Segal), wurden im letzten Jahrzehnt Varianten teils mit, teils ohne klinische Manifestation entdeckt. Die Varianten deuten darauf hin, daß das Enzym GAL-1-PUT keine einheitliche Molekularstruktur zu sein scheint. Eine Zusammenstellung der Varianten ist in Tabelle 1 zu sehen.

Die N e g r o - V a r i a n t e der Galaktosämie, erstmals bei Negern entdeckt, wurde von Segal 1965 und Baker 1966 beschrieben. Die Verfasser (42) fanden bei Galaktosämikern, die keine GAL-1-PUT-Aktivität in den Erythrozyten und Fibroblasten-Kulturen der Haut aufwiesen, bei Verabreichung von C₁₄-markierter Galaktose in der Leber einen normalen Umbau von Galaktose zu Glukose. Im bioptischen Lebergewebe bei 2 dieser Patienten konnte eine GAL-1-PUT-Aktivität von etwa 5 % der Normalwerte ermittelt werden. Die Genträger zeigen im Säuglingsalter Symptome einer Galaktosämie, vertrauen aber später Milch und deren Produkte. Sie weisen

keine Leberzellschäden, keine Katarakte und eine normale geistige Entwicklung auf. Die Frage, warum in der frühen Kindheit Symptome der Galaktosämie bestehen, die sich später zurückbilden, trotz einer Restaktivität von GAL-1-PUT, bleibt unbeantwortet. Sitzmann (48, 50) vermutet, daß das Angebot an Galaktose mit der Nahrung im Säuglingsalter für diese Kinder zu groß ist, oder aber, daß das Enzym erst nach einigen Jahren voll aktiv wird.

Die Variante wurde außer bei Negern auch bei Weißen gefunden. Die Genträger können nur durch Enzymaktivität schätzende Screening-Methoden entdeckt werden. Zur näheren Differenzierung ist die Bestimmung der GAL-1-PUT im leberbiptischen Material nötig.

R e n n e s - V a r i a n t e

Schapira und Kaplan (38) fanden 1969 bei zwei kongolesischen Geschwistern mit dem Bild der klassischen Galaktosämie, einen nicht vollständigen Verlust des Enzyms GAL-1-PUT und zwar betrug der ermittelte Aktivitätswert 1 U/g Hb (normal 13 - 16 U/g Hb). Bei der elektrophoretischen Auftrennung der beiden Blutproben zeigte sich ein abnorm wanderndes Enzym der Erythrocyten, mit auffallend langsam zur Anode wandernder Bande. Ursächlich liegen auch hier Molekularstrukturveränderungen vor.

I n d i a n a - V a r i a n t e

Auch die von Chacko und Mitarbeiter (9) beschriebene Indiana Variante ist vorerst, zumindest in der Literatur einmalig beobachtet. Es handelte sich dabei um ein europäisches Mädchen mit dem klinischen Bild einer Galaktosämie. Obzwar die gemessene GAL-1-PUT-Aktivität nur um die Hälfte des Normalwertes verringert

Tab. 1: Die Varianten der Galaktosämie

I. mit klinischen Symptomen

a) Rennes-Variante	Shapira u.Kaplan, 1969	Frankreich
b) Indiana	Chacko u.a., 1971	USA
c) Chikago I	Chacko u.a., 1977	USA
d) Chikago II	Chacko u.a., 1977	USA

II. Asymptomatische Varianten

a) Duarte	Beutler u.a., 1965	USA, Schweiz
b) Negro	Baker u.a., 1966	USA
c) Los Angeles	Ng u.a., 1973	USA, Mexiko
d) Berne	Scherz u.a., 1976	Schweiz

war, trat bei der Galaktose-Belastung ein rascher Anstieg des Galaktose-1-Phosphats in den Erythrocyten auf. Die unmittelbar nach Blutentnahme gemessene GAL-1-PUT-Aktivität betrug nur noch 35 %, nach 36 Stunden Lagerung bei 4° C war im Gegensatz zu normalen und heterozygoten Galaktosämikern keine Aktivität mehr meßbar.

Die elektrophoretischen Untersuchungsergebnisse ergaben, ähnlich wie bei der Rennes-Variante beobachtet, ein auffallend langsam zur Anode wanderndes Enzym. Bei der Sippenuntersuchung zeigten zwei weitere Familienmitglieder (Mutter und Großmutter mütterlicherseits) die gleiche

verringerte Wanderungsgeschwindigkeit des Enzyms und einen 50 %igen Enzymverlust nach 72 Stunden Lagerung. Der Vater des Kindes lag entsprechend der Enzymaktivitätsbestimmung im Heterozygotenbereich. Seine Blutprobe zeigte ein stabiles Enzym mit normaler Wanderungstendenz im elektrophoretischen Gel. Ein Geschwister war an einer Galaktosämie im Alter von 6 Wochen verstorben. Das Mädchen erwies sich demnach als doppelt heterozygot, einmal heterozygot für die klassische Galaktosämie, zum anderen heterozygot für diese Variante. Ursächlich wird vermutet, daß das Varianten-Gen zur Produktion eines strukturell veränderten Proteins führt, bei welchem die dreidimensionale Konfiguration des Enzyms verändert sei und die Enzym-Instabilität bewirkt. Ein instabiles Enzym kann in vivo einen Aktivitätsverlust hervorrufen und damit funktionell einem Enzymmangel gleichen. Sowohl die Rennes- als auch die Indiana-Variante können im Screening durch Methoden, die die Enzymaktivität abschätzen, aufgedeckt werden. Die Differenzierung ist jedoch erst durch die elektrophoretische Auftrennung möglich.

D u a r t e - V a r i a n t e

Diese Variante der Uridyl-Transferase entdeckten Beutler u.a. (6) 1965. Sie bewirkt einen teilweisen Aktivitätsverlust der GAL-1-PUT, und zwar zeigen homozygote Merkmalsträger die Hälfte, heterozygote 75 % der Normalaktivität. Ursächlich werden Struktur-Gen-Defekte vermutet. Die Diagnose wird durch elektrophoretische Auftrennung gestellt, wobei zwei nicht sehr scharf voneinander getrennte Banden in Erscheinung treten (32). Die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der Enzymvariante liegt höher als die der normalen Transferase. Im Screening ist die Variante nur durch Enzymaktivität messende Methoden zu erfassen, mit der

Einschränkung, daß Homozygote der Duarte-Variante von Heterotygoten der Galaktosämie nicht zu unterscheiden sind. Zudem sind beide in der Regel klinisch gesund (13).

Kelly u.a. (30) hingegen beobachteten einen Knaben im Alter von 2 Monaten, der homozygot für das Duarte-Varianten-Gen war, mit einer Hepatopathie, die als Folge des Enzymdefektes angesehen wurde. Bis zum Alter von 9 Monaten hatten sich alle Symptome zurückgebildet. Die Untersuchungen der Sippe ergaben eine Heterozygotie (Gt^D/Gt^+) für die Eltern und die Schwester.

Kaloud und Sitzmann (26) fanden im Rahmen von Stammbaumuntersuchungen doppelte Heterozygotie zum einen für die Duarte-Variante, zum anderen für die Galaktosämie mit einer Enzymaktivitätsminderung auf ein Viertel der Normalaktivität, ohne daß die Träger dieser Konstellation klinische Symptome hatten. Über die Häufigkeit des Auftretens der Duarte-Variante gaben Frequenzanalysen Aufschluß. Kaloud und Sitzmann (25) fanden in Franken 11,1 %, in Steiermark 12,4 % Duarte-Träger. Mellman und Beutler (6) gaben für die Kalifornische Bevölkerung eine Genfrequenz von 10 - 15 % an. Für die Schweizer Bevölkerung gaben Pflughaupt u.a. (40) 1976 eine Genfrequenz von 0,08 an.

L o s - A n g e l e s V a r i a n t e

Eine weitere Variante, die wie die Duarte Variante keine klinischen Erscheinungen verursacht, ist die von Ng, Bergren und Donell (34) 1973 beschriebene Los-Angeles-Variante. Bei der elektrophoretischen Auftrennung von Hämolysat der Genträger wurden drei Banden anstelle von normalerweise einer registriert. Die Gesamtaktivität der GAL-1-PUT war normal oder erhöht. Die Variante wurde schon mehrfach beobachtet (21).

B e r n e - V a r i a n t e

Ohne klinische Zeichen eines gestörten Galaktosestoffwechsels sind die Genträger der von Scherz u.a. (40) beschriebenen Berne-Variante (Gt^B). Gemäß den anderen Varianten (Rennes, Indiana, Los Angeles, Duarte) war die Stadt der Erstentdeckung namensgebend. Ähnlich der Rennes- und Indiana-Variante weist die Berne-Variante im Hämolysat eine verlangsamte Wanderung des Enzyms in der Gelelektrophorese auf. Die in den Erythrocyten gemessene Enzymaktivität wurde bei homozygoten Genträgern mit 30 %, bei heterozygoten mit 50 % der normalen Aktivität angegeben. In drei Familien konnte die Variante nachgewiesen werden, woraus sich eine kalkulierte Frequenz von 0,0009 ergibt.

C h i k a g o - V a r i a n t e

Eine weitere Variante der Galaktosämie haben Chacko u.a. 1977 (10) beschrieben. Sie fanden in einer Familie an einem Probanden zwei neue Allele der Transferase, die sie als Chicago I "fast moving Chicago variant" (Gt^{C1}) und Chicago II "heat-labile Chicago variant" (Gt^{C2}) kennzeichneten. In der Gelelektrophorese des Hämolysats zeigt die Variante eine veränderte Mobilität. Sie wies eine schnellere Wanderungsgeschwindigkeit auf, die zwischen der normalen und derjenigen der Duarte Variante lag. Die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der Enzymvariante aus Hautfibroblasten gewonnen, ist geringer als normale Kontrollen und wird damit eindeutig von der Duarte Variante unterschieden, die ihrerseits eine beschleunigte Wanderungsgeschwindigkeit hat. Warum eine Differenz der Wanderungsgeschwindigkeit der Transferase im Hämolysat und in Hautfibroblasten besteht, bleibt unklar. Die thermische Prüfung zeigte bei der Chicago-I-Variante keinen Aktivitätsverlust bei Erwärmung bis

zu 50° C, bei Chicago II einen Aktivitätsverlust von 50 % bei 20 Minuten Erwärmung auf 50° C. Eine Fortsetzung der Wärmeeinwirkung auf 40 Minuten hatte keinen weiteren Effekt. Das Hämolysat zeigte nach 4 Monaten Lagerung bei -70° C keine Veränderung bezüglich der Transferaseaktivität. Die Enzymaktivität bei beiden Chicago-Varianten betrug in den Erythrocyten und Hautfibroblasten etwa 25 % des normalen Transferasespiegels. Genträger dieser Varianten haben ohne galaktose-reduzierter bzw. -freier Diät einen erhöhten Galaktose-1-Phosphat-Spiegel in den Erythrocyten und entwickeln Symptome einer Galaktosämie. Im Spotttest nach Beutler zeigte sich bei den beschriebenen Genträgern keine Fluoreszenz, obzwar 25 % Restaktivität gemessen war. Die von Vfs. untersuchte Familie stellt ebenso wie die früher beschriebene Indiana-Variante (9) ein Beispiel einer Galaktosämie dar, bei welcher die Patienten vermutlich heterozygot für unterschiedlich mutierte Allele am Transferaselokus sind. Die Vermutung, daß das Phänomen der Doppelheterozygotie bei diesen seltenen autosomalen Störungen nichts Ungewöhnliches sind, wird von Chacko u.a. in Erwägung gezogen.

1.3 G a l a k t o s ä m i e d u r c h G a l a k t o - K i n a s e - M a n g e l (E.C.2.7.1.6)

Ein weiterer Stoffwechseldefekt im Galaktose-Abbau betrifft die Phosphorylierung der Galaktose. Die Anomalie wurde 1965 von Gitzelmann (12) bei einer Schweizer Zigeunerfamilie erstmals entdeckt.

Durch Aktivitätsminderung oder Fehlen des Enzyms Galaktokinase kann Galaktose nicht in Galaktose-1-Phosphat umgesetzt werden. Es kommt zum Aufstau von Galaktose

und Galaktitol im Urin nach Milchgenuß. Galaktitol (Dulcit) ist ein Zuckeralkohol, der durch die Aldosereduktase aus Galaktose entsteht. Er stellt vermutlich das Endprodukt des Galaktosestoffwechsels bei diesem Defekt dar. Seine Anreicherung in der Linse führt zur Verquellung der Linsenfasern durch Störung der Na^+ -Pumpe und einer daraus entstehenden Katarakt. Während Galaktitol in allen Organen nachgewiesen werden konnte, entstehen vermutlich keine Krankheitszeichen an anderen Organen, außer am Auge. Kaloud u.a. (26) berichten über ein einjähriges Mädchen mit einem hereditären Galaktokinasedefekt, welches EEG-Veränderungen im Sinne einer leichten Schädigung der subkortikalen Zentren aufwies, die im Alter von drei Jahren nicht mehr nachweisbar waren. Das Krankheitsbild des Galaktokinasemangels ist heimtückisch (15), da seine Manifestation erst durch die Linsentrübungen nach wochenlanger Milchernährung auffällt. Bei frühzeitiger Diagnose und galaktosefreier Diät wären die Linsentrübungen vermeidbar, bzw. werden bestehende leichte Veränderungen rückbildungsfähig. Der Nachweis der Erkrankung kann durch Blut-Galaktose erfassende Screeningmethode schon im Neugeborenenalter erbracht werden, sobald Milch verfüttert wurde.

Die anfängliche Vermutung, die Erkrankung komme gehäuft bei Zigeunern vor, scheint sich nicht zu bestätigen (19). Sitzmann und Kaloud (27) meinen, daß dort, wo Konsanguinität gehäuft vorkommt und das mutierte Gen in diesen Sippen vorhanden ist, die Ergebnisse von Frequenzanalysen auch deutlich höher liegen. Sie ermittelten für den Galaktokinasemangel folgende Frequenzen:

Homozygotenfrequenz	Franken	1 : 126 000
	Steiermark	1 : 62 000
	Westungarn	1 : 34 300
Heterozygotenfrequenz	Franken	1 : 178
	Steiermark	1 : 125
	Westungarn	1 : 96

Die in denselben Gebieten durchgeführten Frequenzanalysen für den GAL-1-PUT-Mangel ergaben folgende Werte (44):

Homozygotenfrequenz	Franken	1 : 28 900
	Steiermark	1 : 12 000
	Westungarn	1 : 34 300
Heterozygotenfrequenz	Franken	1 : 85
	Steiermark	1 : 55
	Westungarn	1 : 93

1.4 U D P - G a l - 4 - E p i m e r a s e - M a n g e l

UDP-Gal-4-Epimerase-Mangel wurde von Gitzelmann 1971 erstmals beschrieben (14, 19).

Bei einem Neugeborenen ohne klinische Symptome fiel der mikrobiologische Screeningtest (Paigen-Test) bedingt durch das Zwischenprodukt Galaktose-1-phosphat (Gal-1-P) positiv aus. Durch weitere Untersuchungen konnte der Epimerasedefekt in den Blutzellen nachgewiesen werden. Kultivierte Hautfibroblasten und die Leber wiesen hingegen eine normale Enzymaktivität auf. Die Epimerase ist essentiell für die Umwandlung von Galaktose in Glukose und auch von Glukose in Galaktose (Abb. 1).

Da Uridindiphosphatgalaktose eine essentielle Aufbaustoffsubstanz unter anderem für Zellmembranen und Oberflächenproteine ist, müßte beim Epimerasedefekt exogene Galaktose für bestimmte Biosynthesen im Körper verfügbar sein. Die Diät sollte, im Gegensatz zu Transferase- und Kinasemangel, bei welchen eine konsequente galaktosefreie Ernährung indiziert ist, eine tägliche Galaktosedosis in Form von Milch erhalten. Einer weiteren Mitteilung von Gitzelmann zu Folge, ist das Kind körperlich und geistig altersgerecht entwickelt (16). Bis 1977 wurden von Gitzelmann u.a. 8 Personen aus drei Familien mit einem UDP-Gal-4-Epimerasedefekt in den Erythrocyten beschrieben. Alle Personen haben keine Krankheitszeichen und keine Galaktoseunverträglichkeit (14). Allerdings ist in den anderen Gewebszellen kein Enzymdefekt nachweisbar, so daß nur die Erythrocyten (und eventuell die Leukocyten) betroffen sind. Insofern ist eine galaktosefreie Kost nicht indiziert, auch wenn dieser Defekt durch Hämolysatuntersuchung eindeutig gesichert ist. Der Defekt hat bislang keine klinische Bedeutung, solange er isoliert vorkommt.

2. NACHWEISMÖGLICHKEITEN DER ERKRANKUNG

2.1 Suchtest

Für den Nachweis der Störung im Galaktose-Stoffwechsel durch Enzymdefekte werden diejenigen Methoden beschrieben, die für die Massenuntersuchung in getrockneten Blutfilterpapierproben geeignet sind.

Grundsätzlich werden bei derartigen Screeningmethoden entweder die im Blut vorhandenen Metaboliten (Galaktose und/oder Gal-1-Phosphat) oder die Enzymaktivität der GAL-1-PUT nachgewiesen. Mit dem von Guthrie und Susi (50) - zitiert von Thalhammer - entwickelten Mikroassay, kurz Guthrie-Test genannt, können unter einer ganzen Reihe von Substanzen (z.B. Aminosäuren) auch Blutgalaktosespiegelerhöhungen nachgewiesen werden. Der Test ist halbquantitativ, seine Nachweisgrenze liegt bei 3 - 6 mg/100 ml.

Der Guthrie-Test auf Galaktose erfaßt nur homozygot Kranke (Transferase- und Kinasemangel), nicht hingegen die Heterozygoten, auch nicht Homozygote der Duarte-Variante oder doppelt Heterozygote. Vorteile des Tests sind, daß die zu untersuchende Blutmenge durch Hautstich gewonnen und nicht durch einen Meßvorgang, sondern automatisch durch die konstante Porengröße des Papiers zusammen mit der durch Stanze vorgegebenen Plättchengröße definiert wird. Die Probe ist Träger der Information und leicht mit der Post zu versenden. Ein Nachteil ist, daß die Blutentnahme zwischen 4. - 5. Lebenstag - mit Rücksicht vor allem auf das Phenylketonurie-Screening - die akute Form der Galaktosämie zu spät erfaßt. Hinzu kommt noch, daß der Guthrie-Test

vom Posteinlauf bis zum Ergebnis 40 Stunden benötigt (39).

Eine Verbesserung gegenüber dem ursprünglichen "Metabolic inhibition assay" mit *E. coli* stellt der mikrobiologische Nachweis von Galaktose (und Gal-1-Phosphat) nach Paigen (35), kurz Paigen-Test, dar.

Epimeraselose *E. coli* (W 3805) wird mit Bakteriophag C 21 in ein galaktosefreies Medium gegeben. Dieses wird in Platten gegossen. Nach dem Erstarren werden die ausgestanzten Blutfilterpapierplättchen aufgelegt und bei 37° inkubiert.

In Abwesenheit von Galaktose im Plättchen ist *E. coli* phagenempfindlich, wird infiziert und lysiert. Der Vorgang ruft zu Beginn der Bebrütung eine Trübung des Kulturmediums hervor, die sich nach 12-stündiger Bebrütung vollständig zurückbildet und die Platte bzw. das erstarrte Medium durchsichtig klar erscheinen läßt. Diffundiert hingegen aus einem der aufgelegten Blutfilterpapierplättchen Galaktose, so wird im Bereich des Plättchens *E. coli* gegen das Bakteriophag resistent und lysiert nicht. Es resultiert daraus ein Wachstumshof, aus dessen Durchmesser die Galaktosekonzentration abgeschätzt werden kann. Der Test registriert neben Galaktose auch Gal-1-Phosphat, so daß mit ihm auch Galaktokinase-mangel-Träger entdeckt werden können. Der Test erfordert eine Bebrütung von 12 - 16 Stunden, und kann mit Nabelschnutblut durchgeführt werden (19).

Prinzip des Tests:

<i>E. coli</i> W 3805 (Ep.) } + Bakteriophag C 21 }	a) -- Galaktose	$\xrightarrow{37^{\circ}}$	Lyse
	b) + Galaktose	$\xrightarrow{37^{\circ}}$	Wachstum

Ein weiterer enzymatischer Assay ist der Weidemann-Test (51) von Schön und Mitarb. für die Massenanwendung modifiziert (41).



Das Prinzip des Tests beruht auf der enzymatischen Dehydrierung der Galaktose durch Galaktose-Dehydrogenase (Gal-DH), wobei NAD (Nikotinamid-adenin-Dinukleotid) zu NADH reduziert wird, das im UV-Licht bei 340 oder 366 nm fluoresziert. Dieser Test hat seine Nachweisgrenze bei 30 mg/100 ml, ist demnach weniger empfindlich als der Guthrie-Test, benötigt jedoch nur 1 Stunde. Zu beachten ist, daß die Blutentnahme zwei Tage nach Beginn der Milchernährung und frühestens ein bis zwei Stunden nach der ersten oder besser nach der zweiten Milchmahlzeit des Tages erfolgen sollte. Neugeborene mit leichtem Transferase-Mangel und langsamem Galaktoseblutspiegelanstieg, sowie vor allem solche mit Galaktokinase-mangel könnten unentdeckt bleiben, wenn Galaktose nicht stark erhöht ist.

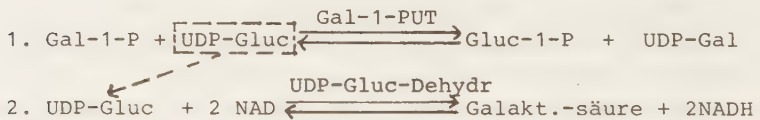
Ebenfalls ein enzymatischer Assay ist der von Beutler & Baluda entwickelte Spottest, mit welchem das Enzym Gal-1-PUT im Erythrocyten nachweisbar ist (4). Auch dieser Test verwendet Filterpapierblutproben mit den entsprechenden Vorteilen. Für die Untersuchung wird eine Stanze aus dem auf Filterpapier eingetrockneten Blutropfen verwendet. Nach Inkubierung mit Gal-1-Phosphat und Uridindiphosphoglucose (UDPG) wird Nikotinamid-adenin-Dinukleotid (NADP) zugesetzt. Ist eine Transferaseaktivität vorhanden, so erfolgt die Auslösung einer Reihe von Reaktionen, die von anderen Enzymen, die gleichzeitig in der Blutprobe enthalten sind,

katalysiert werden: Phosphoglukomutase (PMG), UDP-Gal-Epimerase, Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6PDH), Phosphoglukoseisomerase (Abb. 2). NADP wird zu NADPH im letzten Reaktionsschritt reduziert und fluoresziert im UV-Licht bei 340 - 366 nm.

2.2 Quantitativer Enzymaktivitäts-Test

Die quantitative Enzymbestimmung der Gal-1-PUT in den Erythrocyten erfolgt mit dem UDP-Glukose-Konsumptionstest nach der Methode von Andersen und Brettbauer (2), modifiziert nach Angaben von Beutler und Mitchell (5, 28). Es handelt sich dabei um eine Makromethode, die wegen ihres Aufwandes und der relativ großen Blutmenge (3 ml) nur selektiv zur Bestätigung des Enzymdefektes eingesetzt wird.

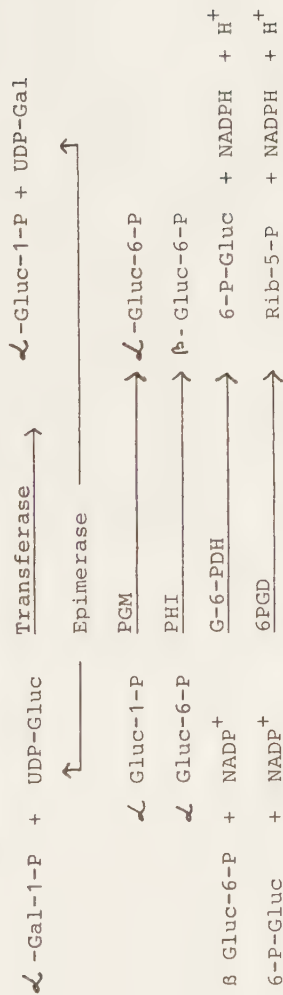
Die Methode des Tests beruht auf folgendem Prinzip:



Dem HämolySAT wird UDP-Gluc zugesetzt und nach Formel 2 gemessen, wieviel von dieser Verbindung durch das Enzym Gal-1-PUT nach Formel 1 umgesetzt wurde. Fehlt das Enzym Gal-1-PUT so wird nach Formel 1 praktisch keine UDP-Gluc umgesetzt und die nachfolgende Reaktion läuft rasch ab (4).

Die Enzymaktivität wird in U/g Hb ausgedrückt, wobei 1 U = Umsatz von 1 μMol UDP-Gluc/h/37° beträgt.

Abb. 2: Schematische Darstellung des Prinzips des Spotttests nach Beutler u. Balude (4)



Erläuterungen zu den Abkürzungen:

Gal, Gluc	=	Galaktose, Glucose	Gal-1-P	=	Galaktose-1-phosphat
Gluc-6-P	=	Glucose-6-phosphat	6-P-Gluc	=	6-Phosphoglucose
NADP ⁺	=	Nicotinamid-adenin- dinucleotid-phosphat	NADPH	=	Nicotinamid-adenin- dinucleotid-phosphat
UDP-Gluc	=	reduz. Uridindiphosphatglucose	UDP-Gal	=	Uridindiphosphatgalaktose
PGM	=	Phosphoglucomutase	PHI	=	Phosphohexoseisomerase
G-6-PDH	=	Glucose-6-phosphat-dehydrogenase	6PGD	=	6-Phosphoglukonatdehydrogenase
Rib-5-P	=	Ribose-5-Phosphat.			

3. FRAGESTELLUNG

3.1 Kann mit dem neu modifizierten Suchtest nach dem Prinzip von Beutler & Baluda die Galaktosämie, verursacht durch Gal-1-PUT-defekt erfaßt werden?

Das Neugeborenenenscreening zur Früherfassung vererbter Anomalien im Galaktosestoffwechsel wird seit etwa einem Jahrzehnt in zahlreichen Ländern vorgenommen. Es ist in der Regel Teil eines gesamten Neugeborenen-Screening, in dessen Zentrum die Frühentdeckung der Phenylketonurie steht. Für ihren Nachweis erfolgt die Blutentnahme am 4. - 5. Lebenstag. Für die Gen-Träger der klassischen Galaktosämie verzögert sich dadurch die Diagnose um eine für die Therapie kostbare Zeitspanne. Um diesen Zeitraum zu verkürzen, wurde der Spottest nach Beutler und Baluda, mit welchem der Enzymmangel direkt nachweisbar ist, von der Fa.Boehringer geändert. Die Prüfung der Anwendbarkeit im Nabelvenenblut und die Aussagekraft des modifizierten Tests sind Gegenstand vorliegender Arbeit.

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

4.1 Prinzip der Untersuchungsmethode

Das Prinzip des Screening-Tests besteht darin, die Enzymaktivität der Gal-1-PUT in den Erythrocyten aus einer eingetrockneten Filterpapierprobe nachzuweisen. Dies ist durch die Inkubation der Blutproben mit UDPG, Gal-1-PO₄ und NADP in Anwesenheit von Trisacetatpuffer pH 8, Digitonin und EDTA möglich.

Abb. 2 veranschaulicht den biochemischen Ablauf dieses Tests. Die Fluoreszenz des reduzierten NADPH im langwelligen UV-Licht, als eines der Endprodukte des letzten Stoffwechselschrittes, ist ein indirekter Nachweis der Enzymaktivität der Transferase. Die Enzyme PGM, G-6-PDH und Phosphoglukonat-Dehydrogenase, die in diesem Ablauf sekundäre Reaktionen katalysieren, sind normalerweise in den Blutproben der Probanden vorhanden.

4.2 Arbeitsgang für den Screeningtest

Folgende Reagenzien sind für die Ausführung des Tests erforderlich:

- 1) Tris-Puffer (288 μ M; pH 8)
1,74 g Tris (hydroxymethyl)methylamin in 30 ml Aqua bidest auflösen und mit 1:1 verdünntem Eisessig auf ein pH 8 einstellen, sodann auf 50 ml auffüllen.
- 2) Digitonlösung gesättigt: 50 mg Digitonin mit

10 ml Aqau bidest bei Raumtemperatur schütteln,
absetzen lassen, den Überstand verwenden.

3) Inkubationslösung

4,29 mg UDPG - Bestellnummer⁽⁺⁾ 110 051

16,14 mg Gal-1-PO₄ - Best.Nr. 104 990

11,53 mg NADP - Best.Nr. 236 659

Die unter 3) genannten Substanzen werden in entsprechenden Mengenangabe eingewogen, gemeinsam in 17,3 ml der Lösung 1 (Tris-Puffer) gelöst und anschließend mit 2,7 ml der Lösung 2 (gesättigte Digitoninlösung) versetzt und gemischt. Das Lösungsgemisch hat eine Haltbarkeit von 4 Wochen bei einer Aufbewahrungstemperatur von 8° C, tiefgefroren bei -20° C von 10 Wochen. Die angegebenen Mengen reichen für eine Testreihe von 200 Untersuchungen aus.

Bei der Abnabelung läßt man einen Tropfen Blut aus der Nabelvene auf ein Filterpapier Whatman 1 aufsaugen, so daß etwa ein Bezirk von 1 cm x 2 cm Größe vom Blut durchtränkt ist (Abb. 3). Die Filterpapierprobe wird mit der nötigen Information versehen (Name, Geburtsdatum, Gebärklinik). Für die Testausführung werden folgende Arbeitsgänge vorgenommen:

- 1) Es wird eine ausreichende Menge Mikrozentrifugen-Röhrchen Eppendorf bereitgestellt, die man entsprechend den Filterpapierblutproben mit fortlaufenden Nummern kennzeichnet.

(+) Die Bestellnummern sind dem Katalog der Fa.Boehringer, Mannheim, "Diagnostica" Sektion 9, "Biochemica für die klinische Chemie" entnommen.

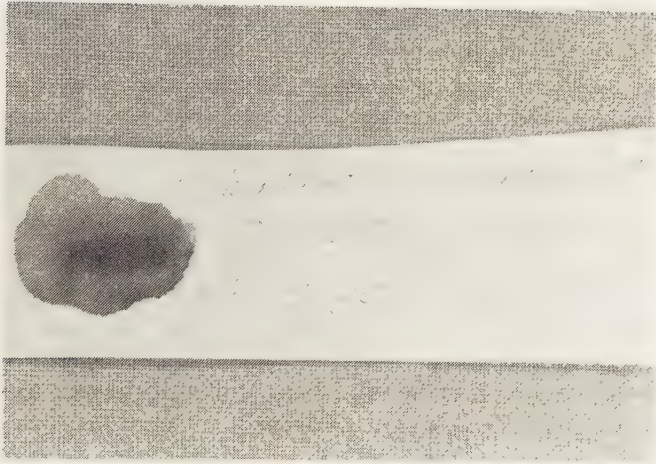


Abb. 3: Filterpapierprobe mit aufgesangtem Blut-
tropfen, Größe 1 cm / 2 cm mit der nötigen
Information (Name, Geburtsdatum, Gebärklinik)

- 2) Aus der getrockneten Filterpapierprobe wird mit dem Bürolocher eine Scheibe herausgestanzt mit einem Durchmesser von 5 mm und in eines der vorbereiteten Röhrchen verbracht.
- 3) Von der Inkubationslösung werden mit einer Einmalmikroliter-Pipette 100 μ l in das mit Filterpapierscheibchen versehene Röhrchen pipettiert; es ist darauf zu achten, daß das Papierscheibchen vollständig in die Lösung eintaucht.
- 4) Nach kurzem Durchmischen im Rotationsmischer der Fa. Eppendorf wird das Mikrozentrifugenröhrchen in einen Thermostat gegeben und 2 Stunden bei 37° C inkubiert.
- 5) Ohne Unterbrechung der Inkubationsdauer werden nach jeweils 30 Minuten etwa 5 - 10 μ l mit einer Einmalmikroliter-Pipette des Inkubationsgemisches entnommen und auf Filterpapier Whatman 1 aufgetragen, so daß jeweils eine kreisförmige Fläche von 4 - 10 mm Durchmesser entsteht. Aus einem Inkubationsgemisch erhält man 4 Spots (Abb. 4).
- 6) Die bei Raumtemperatur getrockneten Spots werden im verdunkelten Raum mit einer UV-Lampe (Hersteller-Firma Mineralight UVSL 25 der Fa. Ultra-Violett Products, Inc. San Gabriel, Calif.). Wellenlänge 366 nm beleuchtet (Abb. 5).

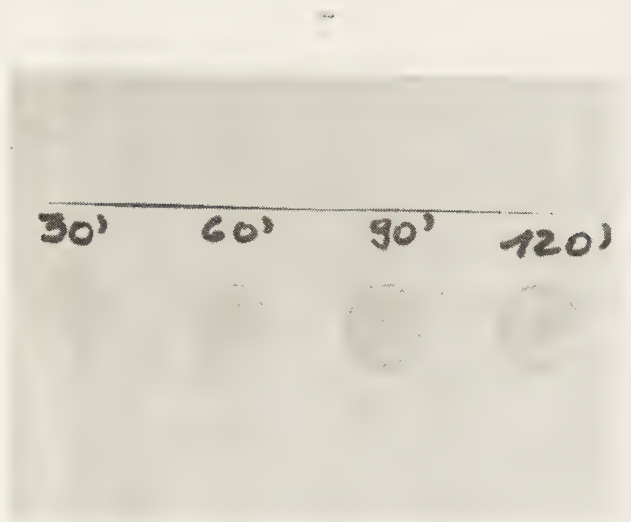


Abb. 4: Aufgetropftes Inkubationsgemisch einer Blutprobe mit Angabe der Inkubationszeit von 30', 60', 90', 120'.

		60'	90'	120'
1. ...	●	●		
2. ...	●			
3. ...	●	●	●	●
4. ...	●			
5. ...	●			
6. ...				
7. ...	●	●		
8. ...	●	●		
9. ...				
10. ...	●			

Legende: siehe Seite 27

Abb. 5: Die bei Raumtemperatur getrockneten Spots unter der Beleuchtung mit einer UV-Lampe (Wellenlänge 366 nm) im abgedunkelten Raum.

Nr. 3: positives Testergebnis eines Probanden mit Galaktosämie, keine Fluoreszenz

Nr. 6: negatives Testergebnis eines gesunden Probanden, beginnende Fluoreszenz bei 30' Inkubationszeit.

4.3 Probandengut

Als Material diene Nabelvenenblut von unausgewählten Neugeborenen aus verschiedenen Frauenkliniken Mittelfrankens sowie aus dem Einzugsgebiet der Universitätskinderklinik Graz. Insgesamt wurden 2.608 Nabelvenenblutproben untersucht. Zur Kontrolle der Methoden wurde eine bekannte Galaktosämie durch Transferasemangel (homozygot) sowie deren Angehörige (heterozygot) in die Untersuchung einbezogen. Dem gleichen Zweck dienten die Blutproben von 2 Benett-Känguruh (Tiergarten Nürnberg), die bekanntlich nur eine sehr geringe Gal-1-PUT aufweisen. (+)

4.4 Beurteilung der Befunde

Zur Beurteilung der Spottteste wird die Fluoreszenzbildung herangezogen und in stark (++) , schwach (+) und fehlend (Ø) eingestellt. Die Prüfung erfolgt nach einer bestimmten Inkubationsdauer und zwar nach 30, 60, 90 und 120 Minuten. Als normal bzw. negativ werden die Proben bezeichnet, die eine strahlende Fluoreszenz beginnend nach 30 Minuten Inkubation haben. Auch Proben, die nach 30-minütiger Inkubation eine verminderte Fluoreszenz aufweisen, aber nach 60 Minuten eine leuchtende, sind als negativ befundet. Positiv wird eine Probe dann bewertet, wenn bis zu maximal 2 Stunden Inkubation keine Fluoreszenz zu beobachten ist, was einer fehlenden Enzymaktivität entspricht. Verminderte schwache Fluoreszenz nach 60 Minuten Inkubation werden als verdächtig entsprechend

(+) Für die freundliche Überlassung der Blutproben möchte ich an dieser Stelle meinen Dank dem Direktor des Tiergartens Nürnberg sagen.

einer Aktivitätsminderung angesehen. Bei Verdachtsfällen sind quantitative Enzymaktivitätsmessungen im Hämolysat nach einer modifizierten Methode von Beutler, Bretthauer u.a. (5) vorgenommen worden, angegeben in U/g Hb. Die von Sitzmann u.a. (23, 29) angegebenen Normalwerte für die Gal-1-PUT betragen beim reifen Neugeborenen 22 ± 7 U/g Hb, für Säuglinge 18 ± 5 U/g Hb, für die Heterozygoten Gen-Träger etwa 50 % dieser Werte.

Für die quantitativen Enzymaktivitätsmessungen wurde Venenblut verwendet (3 ml + 0,5 ml ACD-Stabilisator).

5. ERGEBNISSE

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der Spottteste der Neugeborenen aus dem mittelfränkischen Raum (Kollektiv I). Von den 1.580 Spotttesten fielen 1.551 (98,2 %) negativ aus. 2 Testergebnisse (0,13 %) waren positiv.

27 Spottteste (1,7 %) zeigten eine Abweichung der Fluoreszenz sowohl im Hinblick auf die Intensität, als auch auf die Inkubationsdauer und waren damit auf eine Aktivitätsminderung der Gal-1-PUT verdächtig. Bei 33 Testergebnissen und zwar 8 als negativ, 24 als verdächtig sowie 1 als positiv beurteilten Spotttestproben wurde das Enzym quantitativ gemessen, wobei sich in 18 Fällen (54,5 %) eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Spotttests und den quantitativen Enzymwerten ergab. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, waren von den 24 "verdächtigen" Spotttests 9 im Heterozygotenbereich (38 %) und 15 normal (62 %). Unter den negativ beurteilten Spotttests fanden sich 2 falsch negative Aussagen, da die Enzymaktivität um die Hälfte des Normalwertes vermindert war.

In Tab. 3 sind die Ergebnisse der Spottteste aus dem Einzugsgebiet der Universitätskinderklinik Graz zusammengefaßt (Kollektiv II). Von 1.028 Testen waren 1.001 (97,4 %) negativ. Bei 54 Testergebnissen und zwar 29 negativ und 25 "verdächtig" beurteilte, wurde eine quantitative Enzymuntersuchung gemacht (Tab. 5). Unter den negativen Testen fand sich kein pathologischer Befund. Von 25 verdächtigen Spotttesten waren 10 (40 %) wirklich heterozygot und 15 (60 %) Testergebnisse wiesen eine Enzymaktivität auf, die in normalen Grenzen lagen.

Tab. 2: Ergebnisse der Spotttests von 1.580 Nabel-
schnurblutproben aus Franken (Kollektiv I)

Anzahl der Probanden			Inkubationszeit in Minuten			
			30	60	90	120
1407	)		++	++	++	++
	)					
136	)	1551	+	++	++	++
	)					
8	)		+	+	++	++
	)					
9	)		+	+	+	+
	)					
4	)		+	+	+	++
	)					
1	)		0	+	+	++
	)					
4	)	27	0	0	+	++
	)					
3	)		0	0	+	+
	)					
3	)		0	+	+	+
	)					
3	)		0	0	0	+
	)					
2	)	2	0	0	0	0

Erklärung: ++ deutliche Fluoreszenz
 + schwache Fluoreszenz
 0 keine Fluoreszenz

Tab. 3: Ergebnisse der Spotttests von 1.028 Nabelschnurblutproben aus dem Einzugsgebiet Graz (Kollektiv II).

Anzahl der Probanden (n = 1.028)		Inkubationszeit in Minuten			
		30	60	90	120
910	)	++	++	++	++
	)				
80	)	+	++	++	++
	)				
11	)	+	+	++	++
	)				
9	)	0	+	+	+
	)				
6	)	+	+	+	+
	)				
5	)	+	+	+	++
	)				
4	)	0	0	+	++
	)				
3	)	0	+	+	++
	)				

Erklärung:

++	deutliche Fluoreszenz
+	schwache Fluoreszenz
0	keine Fluoreszenz

Tab. 4: Vergleich der Ergebnisse der Spottteste mit dem quantitativen Enzymtest für Galaktosämie von Probanden aus Franken (Kollektiv I)

Laufende Nr.	Fleckentestergebnisse bezogen auf Inkubationszeit und Fluoreszenzintensität			Beurteilung	Meßwerte der Gal-1-PUT- Aktivität in U/g Hb
	30'	60'	90' 120'		
1	Ø	Ø	Ø	positiv	2,0
2 - 3	Ø	Ø	+	o verdächtig	<u>6,3</u> - <u>4,6</u>
4 - 6	Ø	Ø	+	o verdächtig	18,3 - 18,1 - 18,3
7 - 9	Ø	+	+	o verdächtig	11,5 - <u>9,8</u> - <u>4,9</u>
10	Ø	+	++	o verdächtig	<u>10,5</u>
11 - 18	+	+	+	o verdächtig	12,0 - <u>6,4</u> - 11,3 - 8,9 - 18,4 - <u>14,9</u> - 16,8 - <u>17,7</u>
19 - 21	+	+	++	o verdächtig	<u>9,2</u> - <u>9,6</u> - 13,1
22 - 29	+	+	++	+	22,8 - 16,6 - 18,1 - 12,2 11,7 - 12,9 - <u>7,2</u> - <u>10,6</u>
30 - 33	Ø	Ø	++	o verdächtig	15,9 - 17,3 - 26,6 - 19,7

Gesamtzahl der "verdächtig" o 24, davon 9 Heterozygoten-, 15 Normalwerte
Gesamtzahl der "negativen" + 8, davon 2 Heterozygoten-, 6 Normalwerte

Tab. 5: Spottestergebnisse im Vergleich zu quantitativen Aktivitätsmessungen von Probanden aus dem Einzugsgebiet von Graz (Kollektiv II)

Laufende Nr.	Fleckentestergebnisse bezogen auf Inkubationszeit u. Fluores- zenzintensität				Beurteilung	Meßwerte der Gal-1-PUT-Aktivität in U/g Hb
	30'	60'	90'	120'		
1 - 9	Ø	+	+	+	o verdächtig	13,0 - 7,9 - 7,0 - 11,6 11,5 - 13,5 - 13,6 - 13,7 10,5
10 - 12	Ø	+	+	++	o verdächtig	9,5 - 9,1 - 13,7
13 - 23	+	+	++	++	+	negativ 13,3 - 13,2 - 13,2 - 13,7 13,1 - 12,2 - 12,9 - 13,8 13,3 - 14,0 - 12,6
24 - 29	+	+	+	+	o verdächtig	10,1 - 10,5 - 8,9 - 10,3 6,9 - 11,0
30 - 32	+	+	+	++	o verdächtig	13,1 - 16,7 - 13,8
33 - 36	Ø	Ø	+	++	o verdächtig	18,2 - 19,4 - 14,1 - 14,4
37 - 54	++	++	++	++	+	negativ 22,8 - 20,2 - 19,4 - 19,7 16,9 - 18,4 - 17,8 - 18,5 13,6 - 14,5 - 14,0 - 14,5 14,2 - 14,5 - 15,2 - 16,4 - 17,3 17,3

Gesamtzahl der "verdächtig" o 25, davon 10 Heterozygotenwerte, 15 Normalwerte

unter den 29 "negativen" 4 Werten kein pathologischer Befund.

Bei 196 Spotttesten von Blutproben sowohl aus dem Kollektiv I, aber überwiegend aus dem Kollektiv II, die eine leuchtende Fluoreszenz zeigten und damit negativ beurteilt waren, wurden Enzymaktivitätsmessungen vorgenommen. Die gemessene Enzymaktivität lag bei allen Testen in Einklang zu den Spotttestergebnissen im Normbereich.

Tab. 6 zeigt die Zusammenfassung der Ergebnisse von Franken und Steiermark (Österreich). Es wurden die Spottteste und die dazugehörenden quantitativen Enzymaktivitätswerte in "übereinstimmend" zueinander in Bezug gesetzt. Die zahlenmäßig häufigste Konstellation war eine durchwegs verminderte Fluoreszenz bei einer 120-minütigen Inkubationszeit. Sie wurde insgesamt 14-mal beobachtet und war in 7 Fällen (50 %) übereinstimmend mit den quantitativen Meßwerten.

Die auf eine Galaktosämie bzw. auf eine Verminderung der Gal-1-PUT verdächtigen Ergebnisse von den Spotttesten der Probanden aus Franken führten in 3 Fällen zur Familienuntersuchung, die in Tab. 7 zusammengestellt sind. Die Spottteste wurden bei allen Eltern und Geschwistern vorgenommen. Die quantitativen Enzymbestimmungen konnten nur in 2 Familien vorgenommen werden. Ein Elternpaar folgte der Aufforderung zur Untersuchung nicht. Als vierte Familie in der Tab. 7 (W.O.) wurden ein bekannter Galaktosämiker und dessen Angehörige mit dem Spotttest untersucht. Die Enzymaktivitätswerte waren in diesem Fall von früheren Untersuchungen im gleichen Labor schon bekannt.

Die positiven Spottteste der beiden Benett-Känguruh bestätigten sich bei der quantitativen Nachkontrolle. Die gemessene Enzymaktivität lag bei einem Tier bei 2,9 U/g Hb und beim anderen 3,3 U/g Hb.

Tab. 6: Vergleich übereinstimmender quantitativer Enzymergebnisse zu den Spotttestergebnissen

Dauer d. Inkubation in Minuten				Anzahl der Teste			Übereinstimmende Teste		
30'	60'	90'	120'	Koll. I	Koll. II	Gesamt	Koll. I	Koll. II	ges. %
0	0	0	0	1	/	1	1	/	1 100
0	0	+	+	2	/	2	2	/	2 100
0	+	+	+	3	9	12	2	3	5 41,7
0	0	0	+	3	/	3	0	/	0 0
0	0	+	++	4	4	8	0	0	0 0
0	+	+	++	1	3	4	1	2	3 75
+	+	+	+	8	6	14	2	5	7 50
+	+	+	++	3	3	6	2	0	2 33,3
+	+	++	++	8	11	19	6	11	17 89,5

Tab. 7: Familienuntersuchungen

Nr.	Familie	Fleckentest Inkubationszeit				Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT in U/g Hb
		30'	60'	90'	120'	
1	Ba.C. Kind Vater Mutter	+	+	+	++	9,2 (evtl. Duarte Heterozygot) 12,9 11,7
2	Be.B. 1. Kind Be.A. 2. Kind Be.H. Vater Be.F. Mutter	Ø	+	++	++	nicht gemessen 10,5 nicht gemessen nicht gemessen
3	P.S. Kind P. Vater P. Mutter	Ø	+	+	+	4,9) 4,2) Heterozygote 8,9)
4	W.O. Kind (+) W. Vater W. Mutter W. Großmutter (väterl.-seits)	Ø	Ø	Ø	Ø	< 2 Galaktosämie 6) 5,9) Heterozygote 6,3)

(+) Bei diesem Probanden handelt es sich um eine schon bekannte Galaktosämie, der probehalter im Screeningtest mitgeführt wurde (Kontrolle).

6. DISKUSSION

Die präsymptomatische Erfassung der klassischen Galaktosämie durch den direkten Nachweis des Enzymdefektes der Gal-1-PUT im Nabelschnurblut ermöglicht durch rechtzeitig einsetzende milchzuckerfreie Diät eine erfolgreiche Behandlung. Bei allen Methoden, die auf den Metabolitennachweis (Galaktose oder Gal-1-P) beruhen und von der Milchezufuhr abhängig sind, kann sich die Diagnose um eine für die Therapie entscheidende Zeitspanne verzögern. Nach Scheibenreiter und Thalhammer (39) verlaufen rund zwei Drittel der Galaktosämie-Fälle perakut und würden undiagnostiziert und damit unbehandelt in 8 bis 16 Tagen zum Tode führen. Es geht daraus hervor, wie bedeutungsvoll die frühestmögliche Erkennung des Stoffwechseldefektes ist. Im gleichen Sinne ist die besondere Anfälligkeit galaktosämischer Neugeborener an einer Sepsis durch E. coli zu erkranken, auf die Levy u.a. (31) hinwiesen, zu bewerten. Vfs. berichteten bei diesen Kindern über eine Letalität von 30 %, wobei beim Großteil der Verstorbenen die Diagnose erst in der zweiten Lebenswoche gestellt wurde und daher die Therapie zu spät einsetzte.

Der beschriebene Spotttest entspricht den Screeningkriterien. In seiner Aussage ist er bezüglich der Erfassung homozygoter Genträger für Galaktosämie nach den bislang vorliegenden Ergebnissen als zuverlässig zu bezeichnen (1, 4, 8, 17, 19, 20, 43). Die Spezifität des Testes beträgt 98,4 %.

Die positiven Testergebnisse dieser Untersuchungsreihe von insgesamt 2.608 durchgeführten Spotttesten wiesen in der quantitativen Nachkontrolle nur eine

geringe Gal-1-PUT-Aktivität von 2,0 bis 3,3 U/g Hb auf und standen im Einklang zu den Spotttestergebnissen.

Falsch positive Ergebnisse können auftreten, wenn hohe Umgebungsfeuchtigkeit und -temperatur das Enzym in der Probe zerstört haben. Diesbezügliche Experimente wurden von Shi u.a. (43) vorgenommen, nachdem sie beobachtete, daß die Zahl der positiven Testergebnisse in Sommermonaten höher lag als in der kalten Jahreszeit. Die Haltbarkeit der Filterpapierproben wird von Beutler u.a. (4) bis zu zehn Tagen bei Raumtemperatur angegeben. Nach eigenen Untersuchungen ist bis zu 3 Wochen Lagerung bei 4° C ein aussagekräftiges Ergebnis zu erwarten. Wie aus Abb. 2 zu erkennen ist, kann fluoreszierendes NADP nur bei Anwesenheit von Phosphoglukomutase und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) gebildet werden. Fehlt letzteres, wäre zu erwarten, daß im Spotttest keine Fluoreszenz zustandekommt, obgleich Gal-1-PUT normal vorhanden ist. Beutler u.a. (4) berichten, daß die Blutproben von Trägern dieses Stoffwechseldefektes, der durch eine Verminderung der Aktivität des Enzyms G-6-PDH (E.C.1.1.1.49) charakterisiert ist, eine Fluoreszenz auftritt, da der dafür nötige Reaktionsschritt aufgrund der vorhandenen Restaktivität in den Erythrocyten und wahrscheinlich auch Leukocyten gewährleistet ist. Die gleichen Autoren (4) berichten, daß die Blutprobe einer Trägerin mit dem Defekt der G-6-PDH bei gleichzeitigem Vorliegen einer hereditären nichtsphärocytären hämolytischen Anämie im Spotttest keine Fluoreszenz entwickelte, also positiv war, obgleich die Gal-1-PUT in normaler Höhe gemessen wurde (7). In Regionen mit gehäuftem Auftreten von G-6-PDH-Mangel (Südostasien, Mittel-

meerländer, Malariagebiete) muß diese wichtige Tatsache berücksichtigt werden, wenn dieser Galaktosämiescreeningtest dort zum Einsatz kommt.

Die negativen Testergebnisse, d.h. normaler Ausfall des Tests mit Fluoreszenz, der durchgeführten Spotttests wurden in der vorliegenden Arbeit bei 233 Probanden (9,13 %) einer quantitativen Nachkontrolle unterzogen. In 2 Fällen (0,84 %) zeigte sich eine Abweichung der Gal-1-PUT-Aktivität, die im Bereich der Heterozygoten lagen. Eine Erklärung dafür fand sich nicht. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß eine Bluttransfusion bzw. Blutaustausch zu einem falsch negativen Ergebnis führen kann. Liegt der Spotttest aus dem Nabelschnurblut nicht vor oder sollte eine Wiederholungsuntersuchung wegen positivem Testausfall erforderlich sein, kann die Frage nach einer vorausgegangenen Bluttransfusion für die Diagnose entscheidend sein. Robinow u.a. (31) belegten durch Transferraseaktivitätsmessungen nach Bluttransfusion in 2 Fällen, bei einem galaktosämischen Neugeborenen und einem 2 Jahre alten Kind mit Galaktosämie, daß die Spenderzellen die zirkulierende Galaktose metabolisieren.

Außer der sicheren Aufdeckung der homozygoten Genträger für die klassische Galaktosämie ist die Erkennung der heterozygoten Genträger gleichfalls bedeutungsvoll. Unter den im Spotttest verdächtigen Befunden erwiesen sich von den Probanden aus Franken 38 %, aus Steiermark 40 % in der quantitativen Enzymuntersuchung als heterozygot (Tab. 4 u. 5). Die übereinstimmenden Befunde beider Probandenkollektive zeigen, daß mit dem Spotttest auch annähernd 40 % heterozygote Galaktosämie-Genträger erfaßt werden.

Obgleich heterozygote Genträger phänotypisch gesund sind, zeigen sie eine geringere Toleranz gegenüber Galaktose, deren Ausmaß wahrscheinlich nicht genau parallel mit der im Erythrocyten gemessenen Enzymaktivität einhergeht. Von Gitzelmann wurde angenommen, daß vermutlich ein Viertel der normalen Enzymaktivität für das normale Leben ausreicht (17). Kaloud und Sitzmann fanden bei ihren Sippenuntersuchungen in der Steiermark ein Kleinkind mit einer eben noch meßbaren Enzymaktivität von 1 U/g Hb. Dieser Proband wies keine Symptome einer Galaktosämie auf (29).

Die Kenntnis der Heterozygotie für den Gal-1-PUT-Defekt ist für beide Elternteile von Interesse. Während der Schwangerschaft sollten heterozygote Frauen Milch als auch Milchprodukte meiden, um eine intrauterine Schädigung des Feten zu verhüten. Ist auch der Vater heterozygot, so ist mit einer verminderten Gal-1-PUT-Aktivität beim Feten in 75 % zu rechnen. In diesem Fall sollten sich die Eltern genetisch beraten lassen.

Ist bei einem Neugeborenen die Spotttest-Probe verdächtig im Sinne einer Gal-1-PUT-Aktivitätsminderung, so ist eine quantitative Enzymuntersuchung dringend geboten. Bei bestätigtem Befund sind die Eltern hinsichtlich ihrer Gal-1-PUT-Aktivität einer Enzymuntersuchung zuzuführen.

Von Beutler u.a. (4) wurde angenommen, daß im Spotttest eine erst nach 90 Minuten Inkubation einsetzende Fluoreszenz mit einer um die Hälfte verminderten Enzymaktivität im Erythrocyten gleichzusetzen sei. Ähnliche Konstellationen zeigen nur 3 Testergebnisse unserer vor-

liegenden Untersuchungsreihe. In allen 3 Fällen wurde eine normale Enzymaktivität gemessen. Bei den Untersuchungen der Sippen bekannter Galaktosämiker hingegen zeigten 6 Testergebnisse eine erst nach 90 Minuten Inkubation einsetzende Fluoreszenz, teils abgeschwächt, teils normal. Bei der quantitativen Nachkontrolle in 5 Fällen wiesen alle eine um die Hälfte verminderte Enzymaktivität auf.

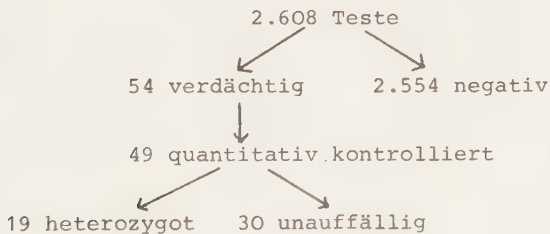
Vergleicht man die quantitativen Testergebnisse einer gemessenen Enzymaktivität unter 10 U/g Hb mit den Ergebnissen der entsprechenden Spottteste, so ergeben sich keine einheitlichen Korrelationen zwischen Dauer der Inkubation und Intensität der Fluoreszenz. Eine verminderte Fluoreszenz bei 30 - 120 Minuten Inkubation fand sich bei den unter 10 U/g Hb liegenden Aktivitätswerten in der vorliegenden Arbeit am häufigsten.

Eine einheitliche Korrelation zwischen Fluoreszenz und Inkubationsdauer ergab sich nicht im Hinblick auf das Ausmaß einer möglichen Aktivitätsminderung, was aber auch die Anforderungen an einen Screeningtest übersteigen würde. Erst die quantitative Enzymuntersuchung kann den Verdacht auf eine Heterozygotie erhärten. Die als verdächtig beurteilten Spottteste zeigten in der quantitativen Kontrolle eine Übereinstimmung in insgesamt 38,8 %, was gleichbedeutend ist mit der Sensitivität des Spotttests im Heterozygotenbereich. Damit eignet sich der Test nicht für die Heterozygotenerfassung.

Alle Teste wurden 120 Minuten inkubiert. Dabei ergab sich, wie nachgewiesen werden konnte (Tab. 6), daß Spottteste, die bei 60 Minuten Inkubation eine schwache

Fluoreszenz aufwiesen, nach weiterer Inkubation bei 90 und 120 Minuten so eindeutig fluoreszierten, daß sie als negativ befunden wurden. 19 derartiger Testergebnisse zeigten in 17 Fällen normale Enzymaktivitätswerte. Wäre die Inkubation nach 60 Minuten abgebrochen worden, wären diese Testergebnisse als positiv oder als "verdächtig" registriert worden, was zu weiteren Kontrollen Anlaß gegeben hätte. Er erscheint deshalb nicht nur sinnvoll, sondern durchaus erforderlich, die Inkubation bis zu 120 Minuten durchzuführen.

Unter den 2.608 Spottesten wurden 54 als verdächtig betrachtet, wovon 49 quantitativ kontrolliert wurden. Davon bestätigten sich 38,8 % (19 Probanden) als heterozygot, wie in der folgenden Übersicht zu ersehen ist.



In diesen Zahlen sind nicht die Ergebnisse der Sippenuntersuchung enthalten.

Von den in der Testreihe als positiv befundenen Spottests erwies sich ein Proband in der quantitativen Enzymuntersuchung als homozygot, während das zweite Testergebnis nicht nachgeprüft werden konnte. Würde

man diese Ergebnisse der Frequenzanalyse zugrunde legen, ergäbe sich eine Homozygotenfrequenz von 1 : 2.608, und eine Heterozygotenfrequenz von 1 : 48. Diese Häufigkeit läge jedoch außerhalb aller bislang erhobenen Frequenzanalyse-Ergebnissen. Die Häufigkeit des Enzymdefektes ist regional unterschiedlich, sie wird von 1 : 10.000 - 1 : 70.000 angegeben (44). Es zeigt sich deutlich, daß bei der für einen Screeningtest doch relativ geringen Zahl von erfaßten Probanden die Interpretation der Ergebnisse durch den Fehler der kleinen Zahl erheblich eingeschränkt wird. Für aussagekräftige Gen-Frequenzbefunde ist die Erfassung von wenigstens 10.000 Probanden erforderlich, wenn man die Frequenz von 1 : 10.000 zugrundelegt.

Ein Screening auf Galaktosämie mit dem Spotttest erwies sich bei der Prüfung im Nabelschnutblut als lohnend. Neben der sicheren Erfassung der Homozygoten können zusätzlich noch in etwa 40 % heterozygote Genträger ermittelt werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Die unterschiedlichen Verlaufsformen der klassischen Galaktosämie durch Gal-1-PUT-Mangel (E.C.2.7.7.12) machen es erforderlich, Testverfahren anzuwenden, mit welchen der Enzymmangel bereits am 1. Lebenstag aufgedeckt werden kann.

Der Enzymassay von Beutler und Baluda, mit welchem Gal-1-PUT im Erythrocyten nachgewiesen wird, wurde in der vorliegenden Arbeit für Nabelschnurblut getestet. Das Testverfahren beruht auf den fluorometrischen Nachweis von NADPH, das in Gegenwart von Gal-1-Phosphat und UDPG aus NADP gebildet wird. Dabei wurde die Intensität der Fluoreszenz nach Inkubationszeiten von 30', 60', 90' und 120' als Maßstab für einen möglichen Aktivitätsverlust angesehen.

2.608 auf Filterpapier abgenommene Nabelvenenblutproben wurden untersucht. Darunter fanden sich 2 positive Testergebnisse, bei welchen die quantitative Bestimmung der Enzymaktivität Gal-1-PUT in Erythrocyten-Hämolysat mit dem Konsumptionstest zwischen 2 - 3 U/g Hb lag. Die positiven Spotttestergebnisse der beiden Benett-Känguruh wiesen ebenfalls bei der quantitativen Messung eine sehr geringe Gal-1-PUT auf.

54 Spottteste waren auf eine zu erwartende Verminderung des Enzyms verdächtig, da sie schwach und/oder erst nach 90 - 120 Minuten Inkubation fluoreszierten. Bei 49 dieser Testergebnisse konnte eine quantitative Enzymaktivitätsmessung vorgenommen werden, wobei in 38,8 % (19 Probanden) sich ein Gal-1-PUT-Aktivitätsverlust von ca. 50 % zeigte, entsprechend den Werten von Heterozygoten der Galaktosämie oder auch Duarte-Variante.

2.552 Spottteste waren eindeutig und gut erkennbar negativ. Bei 196 unausgesuchten Probanden zeigte sich eine normale Gal-1-PUT-Aktivität in den Erythrocyten.

Während im Normal- sowie im Homozygotenbereich eine 100 %ige Übereinstimmung der Ergebnisse der Spottteste mit der quantitativ gemessenen Gal-1-PUT-Aktivität gefunden wurde, konnten heterozygote Gen-Träger der Galaktosämie nicht sicher aufgedeckt werden. Der Spotttest ließ nur eine mögliche, nicht abzuschätzende Aktivitätsminderung erwarten, die eine quantitative Nachprüfung erforderte.

Für die Anwendung des Spotttestes im Massenscreening wäre die Auffindung der heterozygoten Genträger mit einer großen Treffsicherheit zwar wünschenswert; dies darf jedoch im Rahmen solcher Untersuchungen nicht gefordert werden, da sich keine notwendigen Konsequenzen daraus ergeben und die Befunderhebung sich dadurch verzögern könnte.

8. LITERATUR

- 1 Ahlebahrend, J., Wagenknecht, C.: Siebtestuntersuchungen auf Galaktosämie bei Neugeborenen in Berlin.
Z. ärztl. Fortbild. 19, 889 (1977)
- 2 Anderson, E.P., Kalckar, H.M., Kurohashi, K., Isselbacher, K.I.: A specific enzymatic assay for the diagnosis of congenital galactosemia.
L. lab. clin. Med. 50, 469 (1957)
- 3 Baker, L., Mellman, J., Tedesco, A., Segal, St.: Galactosemia: Symptomatic and asymptomatic homozygotes in one Negro sibship.
J. Pediat. 68, 551 (1966)
- 4 Beutler, E., Baluda, M.C.: A simple spot screening-test for galactosemia.
J. Lab. Clin. Med. 68, 137 (1966)
- 5 Beutler, E., Baluda, M.C.: Improved method for measuring Galactose-1-phosphate uridyltransferase activity of erythrocytes.
Clin. Chim. Acta 13, 169 (1966)
- 6 Beutler, E., Baluda, M.C., Sturgeon, Ph., Day, R.: A new genetic abnormality resulting in galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency.
Lancet I / 353 (1965)
- 7 Beutler, R., Baluda, M.C., Sturgeon, Ph., Day, R.: The genetics of galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency.
J. Lab. Clin. Med. 68, 646 (1966)

- 8 Beutler, R., Irwin, H.R., Blumenfeld, C.M., Goldenberg, E.W., Day, R.W.: Field test for galactosemia screening methods in newborn infants.
J. Amer. med. Ass. 199, 501 (1967)
- 9 Chacko, C.M., Christian, J.C., Nadler, H.L.: Unstable galactose-1-phosphate uridyltransferase: ; new variant of galactosemia.
J. Pediatr. 78, 454 (1971)
- 10 Chacko, C.M., Wappner, R.S., Brandt, I.K., Nadler, L.: The Chicago variant of clinical galactosemia.
Hum. Genet. 37, 261 (1977)
- 11 Fishler, K., Donell, G.N., Bergren, W.R., Koch, R.: Intellectual and personality development in children with galactosemia.
Pediatr. 50, 412 (1972)
- 12 Gitzelmann, R.: Deficiency of erythrocyte galactokinase in a patient with galactose diabetes.
Lancet II / 670 (1965)
- 13 Gitzelmann, R., Poley, A., Prader, A.: Partial galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency due to variant enzyme.
Helv. Paediat. Acta 3, 252 (1967)
- 14 Gitzelmann, R.: Deficiency of uridine diphosphate galactose-4-epimerase in blood of an apparently healthy infant.
Helv. Paediat. Acta 27, 125 (1972)

- 15 Gitzelmann, R., Wells, H.J., Segal, S.: Galactose metabolism in a patient with hereditary galactokinase deficiency.
Europ. J. clin. Invest. 4, 79 (1974)
- 16 Gitzelmann, R., Steinmann, B.: Uridine diphosphate galactose-4-epimerase deficiency.
Helv. paediat. Acta 28, 497 (1973)
- 17 Gitzelmann, R., Baerloch, K., Prader, A.: Hereditäre Störungen im Fruktose- und Galaktosestoffwechsel.
Mschr. Kinderheilk. 121, 174 (1973)
- 18 Gitzelmann, R., Schneller, J.: Fluorescent spot screening test for galactosemia: Increased Sensitivity.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 46 (1973)
- 19 Gitzelmann, R.: Früherfassung von Anomalien im Galaktosestoffwechsel.
Mschr. Kinderheilk. 124, 654 (1976)
- 20 Gitzelmann, R.: Der Stand des Neugeborenen-Screening in der Schweiz.
Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 28, 294 (1972)
- 21 Ibarra, B., Vaca, G., Sanches-Corona, J., Hernandez, A., Ramirez, M.L., Cantu, J.M.: Los Angeles Variant of galactose-1-phosphate uridylyltransferase in a mexican family.
Hum. Genet. 48, 121 (1979)
- 22 Ibbot, F.A., Shapcott, D., Berry, H.K., Beutler, E.: A screening procedure and a specific quantitative method for UDP-glucose: a-D-galactose-1-phosphate

Uridyltransferase (EC 2.7.7.12)
Clin. Chem. 23, 1348 (1977)

- 23 Kaloud, H., Sitzmann, F.C.: Die Aktivität der Galactose-1-Phosphat-Uridyltransferase in den Erythrocyten bei Heterozygoten der Galaktosämie in verschiedenen Altersstufen.
Pädiat. Pädol. 6, 268 (1971)
- 24 Kaloud, H., Sitzmann, F.C.: Symptomatik der schweren Form der Galaktosämie in den ersten Lebenswochen.
Therapiewoche 25, 1483 (1975)
- 25 Kaloud, H., Sitzmann, F.C.: Genfrequenz der hereditären Galaktosämie unter Berücksichtigung der Duarte-Variante.
Z. Kinderheilk. 113, 205 (1972)
- 26 Kaloud, H., Sitzmann, F.C., Paltauf, F., Mayer, R.: Die Sippe einer Patientin mit Galaktokinase-Defekt.
Klin. Pädiat. 186, 33 (1974)
- 27 Kaloud, H., Sitzmann, F.C.: Vergleichende Genfrequenzuntersuchungen für den Galaktokinasedefekt in der Steiermark und in Franken.
Z. Kinderheilk. 116, 185 (1974)
- 28 Kaloud, H., Sitzmann, F.C.: Ergebnisse klinischer und biochemischer Untersuchungen bei einer Sippe mit Erkrankung an Galaktosämie.
Beiheft Arch. Kinderheilk. Nr. 64, Enke Verlag, Stuttgart, 1971

- 29 Kaloud, H., Sitzmann, F.C., Teubl, I.: Die Aktivität des Enzyms Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase in den Erythrocyten gesunder Kinder und Erwachsener.
Klin. Pädiat. 185, 12 (1972)
- 30 Kelly, S., Desjardins, L., Khera, SA.: A Duarte variant with clinical signs.
J. Med. Genet. 9, 129 (1972)
- 31 Levy, H.L., Hammersen, G.: Newborn screening for galactoaemia and other galactose metabolic defects.
J. Pediatr. 92, 871 (1978)
- 32 Mathai, C.K., Beutler, E.: Electrophoretic variation of galactose-1-phosphate uridyltransferase.
Science 154, 1179 (1966)
- 33 Ng W.G., Bergren, W.R., Donell, G.N.: A new variant of galactose-1-phosphate uridyltransferase in man:
The Los Angeles variant.
Ann. Hum. Genet. 37, 1 (1973)
- 34 Ng W.G., Bergren, W.R., Fields, M., Donell, G.N.: An improved electrophoretic procedure for galactose-1-phosphate uridyltransferase: Demonstration of multiple activity bands Duarte variant.
Biochim. Biophys. Res. Comm. 37, 354 (1969)
- 35 Paigen, K., Pacholec, F.: A new method of screening neonates for galactosemia.
J. Lab. Clin. Med. zitiert bei Gitzelmann, s.19

- 36 Reuss, A. von: Zuckerausscheidung im Säuglingsalter.
Wien. med. Wschr. 58, 799 (1908)
- 37 Robinow, B.E., Wong, P.W.K., Maschgan, E.R.,
Natelson, S.: Screening for errors in galactose
metabolism with the erythrocytes.
Clin. Chem. 22, 2010 (1976)
- 38 Schapira, F., Kaplan, J.: Electrophoretic abnormality of galactose-1-phosphate uridyltransferase in galactosemia.
Biochim. Biophys. Res. Comm. 35, 415 (1969)
- 39 Scheibenreiter, S., Thalhammer, O.: Galaktosämie
meist foudroyant verlaufend.
Wien. Klin. Wschr. 84, 93 (1972)
- 40 Scherz, R., Pflughaupt, R., Bütter, R.: A new
genetic variant of galactose-1-phosphate
uridyltransferase.
Hum. Genet. 35, 51 (1976)
- 41 Schön, R.: Anpassung d. "Weidemann-Teste" auf
Galaktose an Massenscreening.
J. clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 159 (1976)
- 42 Segal, S.: The negro variant of congenital galactosemia in: Hsia, D.Y.Y.: Galactosemia. C.Thomas,
Springfield / III (1969)
- 43 Shih, V.E., Levy, H.L., Karolkewicz, V., Houghton, S.,
Efron, M.L., Isselbacher, K.J., Beutler, E.,
MacCready, R.A.: Galactosemia screening of newborn in Massachusetts.
N. Engl. J. Med. 248, 753 (1971)

- 44 Sitzmann, F.C., Kaloud, H., Istvan, L., Teubl, I.:
 Die Bedeutung von Frequenzanalysen bei angeborenen Stoffwechselerkrankungen (am Beispiel beider Arten der Galaktosämie).
 Mschr. Kinderheilk. 123, 227 (1975)

- 45 Sitzmann, F.C., Kaloud, H.: Angeborene Störungen des Galaktosestoffwechsels.
 Med. Klin. 70, 491 (1975)

- 46 Sitzmann, F.C., Kaloud, H., Istvan, L.: Biochemie und Klinik der angeborenen Störungen des Galaktose-Stoffwechsels.
 Wien. Klin. Wschr. 87, 12 (1975)

- 47 Sitzmann, F.C., Kaloud, H.: Das Krankheitsbild des Galaktokinasedefektes.
 Klinikarzt 2, 14 (1973)

- 48 Sitzmann, F.C., Kaloud, H.: Die Varianten der Galaktosämie.
 Klinikarzt 12, 346 (1974)

- 49 Sitzmann, F.C., Istvan, L., Teubl, I., Kaloud, H., Cholnoky, P.: Frequenzanalysen für beide Arten der Galaktosämie in Westungarn.
 Wien. klin. Wschr. 1, 15 (1978)

- 50 Thalhammer, O.: Frühdiagnose angeborener Stoffwechselanomalien.
 Laboratoriumsblätter, 26, 1 (1976)

- 51 Weidemann, G.: Screeningtest zum Nachweis einer Galaktosämie.
 Z. klin. Chem. klin. Biochem. 9, 527 (1971)

Herrn Professor Dr. med. A. Windorfer,
damaliger Direktor der Kinderklinik der
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg, danke ich herzlich für die Über-
lassung des Themas.

Herrn Professor Dr. med. F.C. Sitzmann
danke ich für die Anregung und Unterstüt-
zung bei der Bearbeitung des Themas.

LEBENS LAUF

Am 27. Januar 1948 wurde ich als Tochter des Peter Alexandrow und dessen Frau Gertrud Alexandrow, geb. Roßmanith in Schwabmünchen geboren. Nach 5 Jahren Volksschule in Bobingen, Landkreis Augsburg, trat ich in das Naturwissenschaftliche Gymnasium der Privaten Höheren Lehranstalt R. Stahl in Nürnberg ein. 1966 wechselte ich in das Neusprachliche Gymnasium der Ursulinen Schloß Hohenburg in Lenggries um, wo ich 1971 das Abitur bestand. Im gleichen Jahr erfolgte die Immatrikulation an der Universität Erlangen-Nürnberg für das Fach Humanmedizin. 1973 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, ein Jahr später die Ärztliche Vorprüfung. 1975 legte ich den ersten Teil der Ärztlichen Prüfung ab. In den folgenden 2 Monaten famulierte ich in einer kinderärztlichen Praxis. Nach dem erfolgreich abgelegten zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung arbeitete ich im Rahmen des Praktischen Jahres in der Augenklinik und in der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen sowie in der Chirurgischen Klinik des Stadtkrankenhauses Hof. Im April 1980 bestand ich den dritten Teil der Ärztlichen Prüfung. Seit Januar 1981 bin ich als Assistenzärztin in der Neurochirurgie des Klinikums der Stadt Nürnberg tätig.



Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197